

## BAB 3 PROSEDUR PENELITIAN

### 3.1 Metode Penelitian

Penelitian ini menerapkan metode kuantitatif yang ditandai oleh penggunaan data berupa angka-angka dan penerapan analisis statistik. Sugiyono (2015:14) menyatakan bahwa pendekatan kuantitatif merupakan pendekatan penelitian yang didasarkan pada filsafat positivisme untuk menyelidiki suatu populasi atau sampel tertentu. Pengambilan sampel dilakukan secara acak dengan pengumpulan data menggunakan instrumen, dan analisis data dilakukan dengan pendekatan statistik. Pandangan ini sejalan dengan konsep yang dinyatakan oleh Creswell (2014:32), di mana penelitian kuantitatif bertujuan untuk menguji teori-teori secara obyektif dengan memeriksa hubungan antar variabel yang dapat diukur menggunakan instrumen, dan hasil data dapat dianalisis melalui prosedur statistik.

Metode penelitian yang diterapkan dalam studi ini adalah metode eksperimen yang memiliki ciri khas tersendiri, terutama dengan adanya kelompok kontrol. Melalui pendekatan kuantitatif dengan penerapan metode eksperimen, peneliti dapat mengeksplorasi pengaruh suatu variabel terhadap variabel lainnya dengan penerapan kontrol yang ketat.

### 3.2 Variabel Penelitian

Pada penelitian ini terdapat 2 variabel, yaitu:

- 1) Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

- 2) Variabel bebas

Variable bebas pada penelitian ini adalah kontrol (*akuades steril*) dan konsentrasi ekstrak kayu manis (*Cinnamomum zeylanizum*) sebesar 15%, 20%, 25%, dan 30%.

### 3.3 Populasi dan Sampel

- 1) Populasi

Menurut Sugiyono (2015:80), populasi dapat diartikan sebagai suatu area umum yang mencakup: obyek/subyek yang memiliki kualitas dan karakteristik tertentu yang telah ditentukan oleh peneliti untuk diinvestigasi dan kemudian ditarik kesimpulannya. Dalam konteks penelitian ini, populasi merujuk pada tabung reaksi kultur murni bakteri *S. aureus*.



**Gambar 3.1 Populasi Penelitian**

Sumber: Dokumentasi Pribadi

- 2) Sampel

Sampel, menurut definisi Sugiyono (2015:81), merupakan bagian dari totalitas karakteristik dan jumlah yang dimiliki oleh populasi. Dalam penelitian ini,

metode sampling yang diterapkan adalah sampling jenuh, yang dijelaskan oleh Sugiyono (2014:118) sebagai teknik penentuan sampel di mana seluruh anggota populasi digunakan sebagai sampel. Sampel yang terlibat dalam penelitian ini adalah subkultur bakteri *S. aureus* pada cawan petri.



Gambar 3.2 **Sampel Penelian**  
Sumber: Dokumentasi Pribadi

### 3.4 Desain Penelitian

Desain penelitian adalah suatu kerangka sederhana yang menggambarkan pola hubungan antar variabel penelitian atau langkah-langkah yang diambil oleh peneliti untuk mengatasi masalah penelitian. Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimen murni (*true experimental research*) dengan menerapkan rancangan acak lengkap (RAL).

Metode ini memungkinkan peneliti untuk mengontrol variabel-variabel yang mempengaruhi hasil penelitian, sehingga dapat memperoleh data yang akurat dan valid. Dalam rancangan acak lengkap, setiap subjek atau unit eksperimen memiliki kesempatan yang sama untuk dipilih dan ditempatkan dalam kelompok perlakuan yang berbeda, sehingga meminimalkan bias dan memastikan bahwa hasil penelitian dapat digeneralisasi. Langkah-langkah Penelitian

Penetapan jumlah pengulangan untuk setiap konsentrasi didasarkan pada perhitungan menggunakan rumus:

$$(t)(r) - 1 \geq 15$$

Keterangan :

t = Perlakuan

r = Pengulangan

15= Faktor nilai derajat kebebasan umum

Dengan menggunakan rumus di atas, apabila jumlah perlakuan (t) adalah 5, maka jumlah pengulangan dapat dihitung sebagai berikut:

$$(t)(r) - 1 \geq 15$$

$$(5)(r) - 1 \geq 15$$

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 20$$

$$r \geq 4$$

Sehingga, dalam penelitian ini, setiap konsentrasi diulang sebanyak 4 kali. Penentuan konsentrasi dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang diperoleh melalui program Microsoft Excel. Detail lengkapnya dapat dilihat pada Tabel 3.4.1 berikut:

Tabel 3.1 Rancangan Acak Lengkap

ULANGAN 1	ULANGAN 2	ULANGAN 3	ULANGAN 4
P0	P1	P4	P0
P2	P0	P3	P3
P3	P2	P2	P1
P4	P0	P4	P4
P1	P1	P2	P3

Keterangan:

P0= Kontrol (Konsentrasi Ekstrak 0%)

P1= Konsentrasi Ekstrak 15%

P2= Konsentrasi Ekstrak 20%

P3= Konsentrasi Ekstrak 25%

P4= Konsentrasi Ekstrak 30%

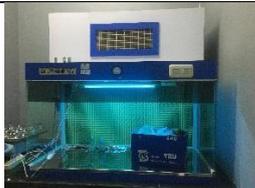
### 3.5 Langkah-langkah Penelitian

Secara umum, penelitian ini terdiri dari 2 tahap, yaitu;

- 1) **Tahap perencanaan atau persiapan**, yaitu meliputi:
  - a) Tanggal 30 Oktober 2023 mendapatkan informasi mengenai penetapan pembimbing skripsi
  - b) Tanggal 6 November 2023 pengajuan judul dan proposal usulan disetujui oleh pembimbing I dan II
  - c) Tanggal 8 Januari-16 Februari 2024 melakukan revisi proposal penelitian dengan dibimbing oleh pembimbing I dan II
  - d) Tanggal 20 Februari 2024 acc proposal oleh pembimbing I dan II
  - e) Tanggal 5 Maret 2024 melaksanakan seminar proposal
- 2) **Tahap pelaksanaan**, yang meliputi:
  - a) Mempersiapkan alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian, alat dan bahan yang dapat dilihat pada tabel 3.2.

Tabel 3.1 Alat dan bahan

No.	Alat & Bahan	Spesifikasi & Kegunaan	Jumlah	Gambar
1	Autoklaf	Autoclave GEA (Untuk mensterilisasikan alat yang akan digunakan)	1 Buah	
2	Inkubator	Memmert (Untuk menyimpan bakteri yang dibiakan)	1 Buah	

3	<i>Laminar Air Flow (LAF)</i>	Meja kerja steril untuk inokulasi	1 Buah	
4	Cawan Petri	Normax (Untuk inokulasi biakan bakteri)	5 Buah	
5	Timbangan	Untuk menimbang simplisia kayu manis	1 Buah	
6	Pinset	Untuk mengambil paper disc	4 Buah	
7	Saringan	Untuk menyaring simplisia kayu manis	1 Buah	
8	<i>Rotary Evaporator</i>	BUCHI (Untuk membuat ekstrak kayu manis)	1 Buah	
9	Magnetic stirrer	D-LAB / Tipe MX-S (untuk menghomogenkan suspense sampel)	1 Buah	

10	Bunsen	Pudak (untuk mensterilkan ose)	1 Buah	
11	Gelas Kimia	Pyrex (untuk membuat formula <i>Hand sanitizer</i> )	5 Buah	
12	Jangka Sorong	Buterfly (untuk mengukur zona hambat)	1 Buah	
13	Jarum Ose	USBECK (untuk memindahkan biakan bakteri ke media baru)	1 Buah	
14	Timbangan analitik	BOECO (untuk menimbang bahan yang akan digunakan dalam praktikum)	1 Buah	
15	<i>Paper disc</i>	Untuk menguji ekstrak kayu manis	20 Buah	

16	Etanol 96%	Shagufta (bahan untuk maserasi)	500 ml	
17	Akuades Steril	Akuades UFSA (bahan untuk <i>Hand sanitizer</i> )	50 ml	
18	Media NA	Himedia (media yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangkan bakteri)	7,5 gram	
19	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	Bahan yang akan diujikan	1 cawan petri	

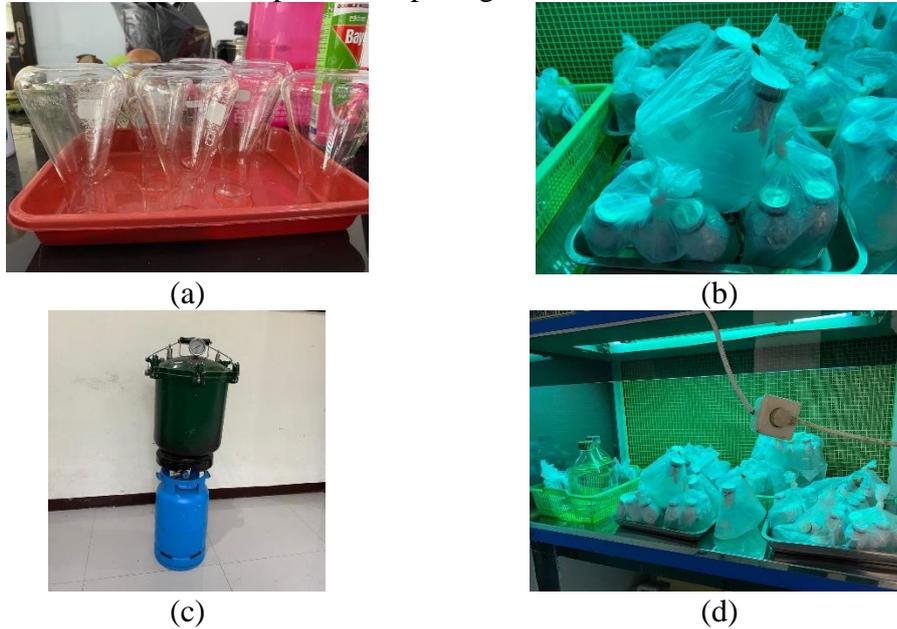
b) Pelaksanaan penelitian,, meliputi;

(1) **Sterilisasi Alat**

Alat-alat yang akan digunakan perlu disterilkan terlebih dahulu untuk menghindari kontaminasi oleh mikroorganisme. Berikut adalah langkah-langkah proses sterilisasi yang akan diterapkan:

- (a) Membungkus alatt yang akan digunakan menggunakan alumunium foil dan menggunakan plastik tahan panas;
- (b) Memasukan alat yang akan di sterkan kedalam wadah autoklaf yang telah diisi air sampai batas tanda yang ditentukan;
- (c) Mematikan pemanas dan tunggu sampai tekanan 0;
- (d) Mengeluarkan alat dari autoklaf;
- (e) Meniriskan alat dan bahan yang telah disterilasi;
- (f) Alat telah siap untuk digunakan.

Proses sterilisasi dapat dilihat pada gambar 3.3



Gambar 3.3 Sterilisasi Alat

Alat yang telah dicuci ditiriskan (a), membungkus alat dengan aluminium foil dan plastik (b), proses sterilisasi (c), meniriskan alat yang telah disterilisasi (d).

## (2) Pembuatan Ekstrak kayu manis

Tahapan pembuatan ekstrak kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum*) adalah sebagai berikut:

- (a) Mengeringkan kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum*) di dalam oven selama 1 jam pada suhu 50°C;
- (b) Menimbang kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum*) sebanyak 200 gram;
- (c) Menghaluskan bahan dan saring hingga halus;
- (d) Memindahkan simplisia yang telah halus ke Erlenmeyer lalu tambahkan pelarut etanol 96% dan simpan selama 12jam di orbital shaking inkubator;
- (e) Menyaring larutan dengan kertas saring;
- (f) Memindahkan hasil saringan ke evaporator;
- (g) Memindahkan cairan yang sudah pekat ke dalam botol kaca yang telah di sterilkan.

Proses pembuatan ekstrak kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum*) dapat dilihat pada gambar 3.4



Gambar 3.4 Pembuatan Ekstrak Kayu Manis

Mengukur simplisia (a), menggabungkan etanol dengan simplisia (b), dimasukan ke orbital shaking incubator (c), penyaringan (d), larutan siap dievaporasi (e), ekstrak kayu manis (f).

### (3) Pembuatan *hand sanitizer* ekstrak kayu manis

Tahapan pembuatan *Hand sanitizer* ekstrak kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum*) adalah sebagai berikut.

- (a) Menyiapkan 5 buah gelas kimia yang akan digunakan sebagai wadah dalam pembuatan *Hand sanitizer*.
- (b) Memberi label pada ke 5 gelas kimia.
- (c) Menuangkan ekstrak kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum*) pada masing-masing gelas yang telah diberi label.

Konsentrasi ekstrak kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum*) didapat dari rumus berikut:

$$V1.N1 = V2.N2$$

Keterangan:

V1 = Volume yang dicari

N1 = Konsentrasi awal (100% larutan)

V2 = Volume yang diinginkan (ditentukan 100 ml)

N2 = Konsentrasi yang diinginkan

Sehingga jumlah ekstrak kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum*) yang dituangkan adalah:

(1) Konsentrasi 15% ekstrak = **1,5 gram**

(2) Konsentrasi 20% ekstrak = **2 gram**

(3) Konsentrasi 25% ekstrak = **2,5 gram**

(4) Konsentrasi 30% ekstrak = **3 gram**

(d) Mencampurkan akuade steril pada masing-masing gelas kimia, yaitu:

1) Konsentrasi 15% ekstrak = 10 ml

2) Konsentrasi 20% ekstrak = 10 ml

3) Konsentrasi 25% ekstrak = 10 ml

4) Konsentrasi 30% ekstrak = 10 ml

(e) Menghomogenkan campuran ekstrak dengan akuades pada *maghnetic stirrer* sampai merata.

Adapun proses pembuatan *hand sanitizer* ekstrak kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum*) dapat dilihat pada gambar 3.5



(a)



(b)

Gambar 3.5 *Hand sanitizer* ekstrak kayu manis

Menghomogenkan ekstrak dengan akuades steril (a), Konsentrasi ekstrak (b)

(4) **Uji hambat bakteri s.aureus**

**1) Pembuatan media NA**

Tahapan pembuatan media NA adalah sebagai berikut:

(a) Timbang media NA (Oxoid) sebanyak 7,5 gram;

(b) Tambah akuades lalu aduk dengan batang pengaduk;

(c) Panaskan dengan menggunakan *maghnetic stirrer* sampai media tercampur homogen;

(d) Tuangkan media pada labu elenmeyer;

(e) Sterilkan seluruh media dengan menggunakan auroklaf;

(f) Tiriskan media NA

Proses pembuatan media NA dapat dilihat pada gambar 3.6



(a)



(b)



(c)



(d)

Gambar 3.6 Pembuatan media NA

Menakar media NA (a), menghomogenkan akuades dan media NA (b), setelah di sterilkan, media NA dimasukkan ke cawan petri (c), di diamkan hingga mengeras (d).

## 2) Inokulasi bakteri uji

Ambil bakteri menggunakan jarum ose, inokulasikan ke dalam wadah cawan petri yang telah berisi media NA secara *spread plate* (harus merata ke seluruh permukaan media) dan dibiarkan terlebih dahulu agar permukaan mengering. Lakukan proses tersebut pada 5 cawan petri.

Proses dapat dilihat pada gambar 3.7

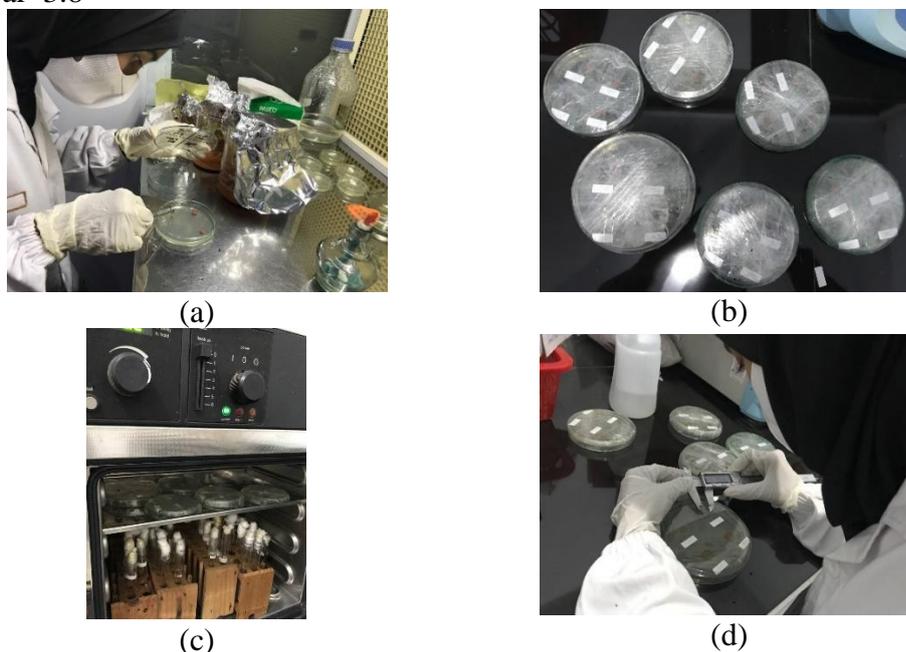


Gambar 3.7 Inokulasi Bakteri Uji

### 3) Pengujian secara difusi cakram

- (a) *Paper disc* dicelupkan ke dalam wadah yang berisi *hand sanitizer* ekstrak kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum*), kemudian diletakkan secara simetris di atas cawan petri dengan jumlah 4 kertas cakram. Larutan uji yang digunakan adalah *hand sanitizer* ekstrak kayu manis dengan konsentrasi 10%, 20%, 25%, 30%, serta kontrol.
- (b) Pada setiap *paper disc* diinokulasi dengan jarak tertentu agar tidak terjadi *overlapping* zona hambat.
- (c) Beri label pada setiap *paper disc* dan pada dasar cawan patri.
- (d) Lakukan inkubasi selama 24 jam. Amati zona keruh dan jernih yang terbentuk di sekitar *paper disc* dengan menggunakan jangka sorong.

Proses pengujian dengan menggunakan difusi cakram dapat dilihat pada gambar 3.8



Gambar 3.8 Pengujian secara Difusi Cakram

Menyimpan *paper disc* yang telah dicelupkan ke cawan petri (a), Hasil *paper disc* yang telah dicelupkan ke berbagai konsentrasi (b), proses inkubasi cawan petri (c), proses perhitungan zona hambat menggunakan jangka sorong (d).

### 3.6 Teknik Pengumpulan Data

Dalam penelitian ini, metode pengumpulan data yang diterapkan adalah observasi, suatu teknik di mana data diperoleh dengan mengamati secara langsung objek penelitian. Objek yang diamati dalam konteks ini adalah diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang terdapat pada media. Berbagai konsentrasi ekstrak kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum*) digunakan, yaitu 15%, 20%, 25%, 30% dan kelompok kontrol.

### 3.7 Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian atau instrumen pengumpulan data adalah alat bantu yang dipilih dan digunakan oleh peneliti dalam kegiatannya mengumpulkan data agar kegiatan tersebut menjadi sistematis dan dipermudah olehnya. Berikut ini merupakan instrumen yang digunakan dalam penelitian Tabel 3.3

Tabel 3. 2 Instrumen Uji Daya Hambat *Hand Sanitizer* Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum zeylanicum*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi	Ulangan				Total Diameter Zona Hambat (mm)
	1 (mm)	2 (mm)	3 (mm)	4 (mm)	
0% (Kontrol)					
15%					
20%					
25%					
30%					

### 3.8 Teknik Pengelolaan dan Analisis Data

Setelah mendapatkan data dari penelitian, langkah-langkah analisis data dilakukan dengan menggunakan aplikasi SPSS (*Statistical Product and Service Solutions*) versi 25 sebagai berikut:

- 1) Uji Prasyarat Analisis
  - a) Uji normalitas data

Uji normalitas digunakan untuk menentukan apakah data mengikuti distribusi normal atau tidak. Dalam penelitian ini, Uji Shapiro-Wilk digunakan untuk menilai normalitas data. Jika kedua kelompok data berasal dari populasi yang memiliki distribusi normal, maka analisis selanjutnya akan melibatkan uji homogenitas.

- b) Uji homogenitas varians

Uji homogenitas varians dilakukan untuk menginvestigasi apakah populasi memiliki varians yang serupa atau tidak. Dalam penelitian ini, uji homogenitas varians menggunakan uji Levene. Apabila kedua kelompok data menunjukkan homogenitas varians, maka analisis selanjutnya akan menggunakan uji ANOVA satu jalur. Sebaliknya, jika kedua kelompok data memiliki varians yang tidak homogen, maka analisis akan menggunakan uji non-parametrik. Analisis data pada penelitian ini dilakukan secara deskriptif dan kuantitatif, yaitu dengan menguraikan hasil penelitian berdasarkan data yang diperoleh secara menyeluruh.

- c) Uji hipotesis

Uji hipotesis dilakukan setelah memperoleh data hasil uji prasyarat analisis. Pengujian statistik dilakukan melalui ANOVA satu jalur untuk mengevaluasi apakah terdapat pengaruh yang signifikan di antara perlakuan. Jika terdapat pengaruh, analisis lanjutan menggunakan uji Tukey HSD dilakukan. Uji ini

bertujuan untuk membandingkan setiap perlakuan yang diberikan dengan kelompok kontrol.

### 3.9 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2024, pembuatan ekstrak kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum*) dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia Universitas BTH Tasikmalaya. Pengujian penghambatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Siliwangi.



(a)



(b)



(c)

Gambar 3.9 Tempat Penelitian  
Laboratorium Botani (a), Laboratorium Mikrobiologi (b), Laboratorium BTH (c).